タバコ主流煙及び二本鎖 RNA 誘発気道炎症マウスにおける TNF- α を介したコルチコステロイド感受性の低下

西本裕樹,^a 岩本一平,^a 鈴木彩加,^a 上田敬太郎,^a
木村元氣,^a Kazuhiro Ito,^b 木澤靖夫*,^a

TNF- α Decreased Corticosteroid Responsiveness in Mice Models of Airway Inflammation Induced by Double Strand RNA and/or Tobacco Smoke Exposure

Yuki Nishimoto,^a Ippei Iwamoto,^a Ayaka Suzuki,^a Keitaro Ueda,^a
Genki Kimura,^a Kazuhiro Ito,^b and Yasuo Kizawa*,^a

^aLaboratory of Physiology and Anatomy, School of Pharmacy, Nihon University; 7-7-1 Narashinodai, Funabashi, Chiba 274-8555, Japan; and ^bAirway Disease Section, National Heart and Lung Institute, Imperial College London; Dovehouse Street, London SW3 6LY, U.K.

(Received December 22, 2018; Accepted February 14, 2019; Advance publication released online April 2, 2019)

Reduction of corticosteroid responsiveness is one of the important clinical problems in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). In this study, we determined the effects of neutralization of tumor necrosis factor- α (TNF- α) on corticosteroid insensitivity in mice models of airway inflammation induced by poly(I:C) and tobacco smoke (TS) exposure. Mice (male A/J strain, 5 weeks old) were exposed to TS for 10 d, or TS for 11 d and poly(I:C) for 3 d. Anti-TNF- α antibody was intranasally treated once every other day 2 h before the TS exposure, and dexamethasone 21-phosphate (DEX) was treated 30 min before the TS or poly(I:C) exposure. On the next day of the last stimulation, mice were sacrificed. The combination treatment of DEX and TNF- α neutralization was significantly attenuated the increase of the numbers of inflammatory cells in BALF and the TNF- α mRNA expression levels induced by TS and poly(I:C) exposure, even though TNF- α neutralization alone had little effect. These data indicated that neutralization of TNF- α restores corticosteroid responsiveness. Therefore, our study suggests that targeting TNF- α signaling pathway provides a new therapeutic approach to corticosteroid refractory airway diseases.

Key words—corticosteroid resistance; tumor necrosis factor- α neutralization; tobacco smoke

緒 言

ステロイド抗炎症薬に対する感受性の低下は、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease; COPD) 患者にみられる特徴であり、COPD の治療を困難にする要因となっている。^{1,2)} COPD は持続的な末梢気道炎症を基礎とし、これに伴う杯細胞の過形成と気道粘液の過剰産生、気道平滑筋の肥厚といった気道リモデリングにより不可逆的な気道狭窄を呈する。^{3,4)} そのため、COPD 治療においては気道炎症の制御が重要と考えられるが、COPD 患者はステロイド抗炎症薬に対して抵抗性を示すこ

とが知られている。また、COPD 患者においては、上気道での易感染性や rhinovirus, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* などの呼吸器感染症による急性増悪も問題となる。⁵⁻⁹⁾ われわれは以前、マウスを用いた *in vivo* 研究において、タバコ主流煙 (tobacco smoke; TS) や二本鎖 RNA である poly(I:C), lipopolysaccharide (LPS) による反復刺激によってコルチコステロイド感受性の低下を伴う気道炎症が誘導されることを明らかにした。¹⁰⁻¹²⁾ また、ヒト末梢血由来単核球に *Chlamydia pneumoniae* を感染させた場合やヒト気道上皮由来培養細胞株 A549 に rhinovirus を感染させた場合にコルチコステロイド感受性が低下することが報告されている。^{13,14)} すなわち、呼吸器感染症は COPD の急性増悪だけでなく、コルチコステロイド感受性をさらに低下させる要因にもなる可能性

^a日本大学薬学部機能形態学研究室, ^bAirway Disease Section, National Heart and Lung Institute, Imperial College London

*e-mail: kizawa.yasuo@nihon-u.ac.jp

がある。したがって、COPD 及びその急性増悪時における気道炎症の制御を目指す場合、コルチコステロイド感受性を改善することが COPD 治療に大きく貢献すると考えられる。

コルチコステロイドが持つ抗炎症作用の機序の 1 つとして、コルチコステロイドと結合したグルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor; GR) が histone deacetylase2 (HDAC2) などと複合体を形成し、プロモーター領域上の glucocorticoid responsive element に結合することで炎症関連遺伝子の発現を抑制することが知られている。^{15,16)} タバコ煙や酸化ストレスは HDAC2 のリン酸化やユビキチン化を誘導し、HDAC2 発現量の低下を誘導することで、コルチコステロイド感受性を低下させる。¹⁷⁾ また、HDAC2 は GR のリン酸化レベルやアセチル化レベルを調節することで GR の活性を調節する機能を持つ。^{15,18)} このため、HDAC2 発現量の低下は GR 活性そのものを低下させる要因にもなる。また、われわれが以前報告したコルチコステロイド感受性の低下が認められた気道炎症モデルでも、HDAC2 発現量の低下を観察している。^{10,12)} このような機序が関与することから、GR 及び HDAC2 の活性はコルチコステロイド感受性を調節する重要な因子と言える。

しかし近年、ヒト由来気道平滑筋細胞への腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor- α ; TNF- α) とインターフェロン- γ (interferon- γ ; IFN- γ) の共処理によってコルチコステロイド感受性が低下すること、及びマウス肝がん由来細胞株 BWTG3 に TNF- α を単独処理しても GR 活性が低下することが報告されている。^{19,20)} また、ヒト末梢血由来単核球への *Chlamydia pneumoniae* 感染によって誘導されるコルチコステロイド感受性の低下が TNF- α 依存적であることも報告されている。¹⁴⁾ 加えて、*in vivo* 研究でも、マウスに TNF- α を曝露させることで GR 活性が低下すること、及び ovalbumin (OVA) 誘発喘息モデルにおけるコルチコステロイド感受性の低下に TNF- α が関与することが報告されている。^{19,21)} そのため、TNF- α は COPD の病態形成に関与する可能性があることから、気道炎症に伴うコルチコステロイド感受性の低下は TNF- α 依存적である可能性が考えられた。²²⁾

そこで本研究では、まずマウスに TS を曝露させ

て気道炎症を誘導し、これに対する抗 TNF- α 抗体の効果について検討した。さらに、呼吸器感染症による COPD の急性増悪を模倣した気道炎症モデルにおけるコルチコステロイド感受性の低下と TNF- α の関連を調べるため、TS 曝露後に poly (I:C) を反復経鼻曝露して誘導した気道炎症モデルに対する抗 TNF- α 抗体の効果についても検討した。

実験方法

1. 実験動物 本研究における *in vivo* 実験はすべて、三共ラボサービス㈱ (東京) より購入した雄性 A/J 系マウス (5 週齢; 22–27 g) を使用した。購入したマウスは、固形飼料及び水を自由に摂取させ、温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12 時間の明暗周期の飼育室において、1 週間馴化させたのち実験に供した。なお、すべての動物実験は、日本大学動物実験運営内規及び日本大学薬学部動物実験指針を遵守して行った。

2. 病態モデル TS は、ハイライト [hi-lite® (ニコチン 17 mg/本、タール 1.4 mg/本); 日本タバコ産業、東京] を用いて、cigarette smoke generator SG-200 (柴田科学、草加) により発生させ、新鮮空気で 4% に希釈した。マウスをタバコ曝露用チャンバーに入れて、希釈した TS に 10 日間 (30 min/d) 曝露させた。又は、希釈した TS に 11 日間曝露させた後、poly (I:C) [1 mg/mL, 50 μL /animal; poly (I:C)-LMW; InvivoGen, San Diego] を 3 日間経鼻曝露させた。また、TS 曝露又は poly (I:C) 投与 2 時間前に 3% isoflurane (アボット、東京) 麻酔下で抗 TNF- α 抗体として 25 μL の Mouse TNF- α antibody polyclonal goat IgG (1 mg/mL; R&D Systems, Minneapolis) を 1 日間隔で経鼻投与した。Dexamethasone 21-phosphate disodium salt (DEX; Sigma Aldrich Co., St. Louis) は、TS 曝露又は poly (I:C) 投与 30 分前に皮下投与した。

3. 気管支肺胞洗浄液及び肺の採取 最後の TS 曝露から 1 日後に、To らの方法に準じて気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取した。¹²⁾ Pentobarbital (ソムノペンチル; 大日本住友製薬、大阪) 過麻酔によりマウスを安楽死させ、気管を切開して静脈カテーテルを挿管・固定した。静脈カテーテルを通じて生理食塩液 (100 mL/kg) による洗浄操作を 3 回行い、この洗浄液を BALF として採取した。

4. BALF 細胞分画及び上清の測定 採取した BALF は $500 \times g$, 4°C にて遠心し, 細胞分画と上清をそれぞれ採取した. 上清はサイトカイン測定用に分取し, -80°C で保存した. 細胞分画は 0.2% 及び 1.6% の NaCl を順に添加して溶血させた後, フックスローゼンダール血球計数盤を用いて細胞数を計数した. さらに, 細胞懸濁液 $100 \mu\text{L}$ を分取して, monoclonal antibody to neutrophils-FITC (clone 7/4; Acris Antibodies GmbH, Herford) 及び propidium iodide (Sigma Aldrich Co., St. Louis) をそれぞれ $2 \mu\text{L}$ ずつ添加して室温で 30 分間インキュベートした. その後, リン酸緩衝液を添加して 1 mL に調製し, flow cytometer (ALTRA II System; ベックマン・コールター, 東京) を用いて BALF 中の細胞組成を測定し, BALF 中の好中球数を算出した. また, BALF 上清中の chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (CXCL1) 量は Mouse CXCL1/KC Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, Minneapolis) を用いて測定した.

5. 肺におけるサイトカイン mRNA 発現の測定 マウスの左肺に RNA iso plus (タカラバイオ, 草津) を 1 mL 加えてホモジネートして破碎・均一化し, RNA iso plus の添付文書に記載された方法に従って total RNA を調製した. $1 \mu\text{g}$ の total RNA を鋳型にし, PrimeScript™ RT reagent Kit (タカラバイオ, 草津) を用いて逆転写反応を行った. その後, TNF- α 及び glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) に対する特異的プライマー (TNF- α : forward; 5'-TTC TGT CTA CTG AAC TTC GGG GTG ATC GGT CC-3', reverse; 5'-GTA TGA GAT AGC AAA TCG GCT GAC GGT GTG GG-3', GAPDH: forward; 5'-ACC ATC TTC CAG GAG CGA GA-3', reverse; 5'-CAG TCT TCT GGG TGG CAG TG-3'), 及び SYBR® Premix Ex Taq™ (タカラバイオ, 草津) を用いて real time PCR 法により, 肺における TNF- α mRNA 発現量を測定した. PCR は, Mx3000P (STRATAGENE, San Diego) を用いて, すべてのプライマーに共通の反応条件 (1 cycle at 95°C for 3 min, 40 cycles at 95°C for 15 s and 60°C for 1 min) で行った. 結果は, GAPDH の mRNA 発現量に対する目的 mRNA 発現量の比を用い, comparative CT method により解析した.

Fig. 1. TS Caused Corticosteroid-insensitive Airway Neutrophilia in BALF

Mice were exposed to TS for 1–10 d and subcutaneously treated with 0.6 mg/kg of DEX once daily 30 min before the TS exposure. The numbers of (A) alveolar total cells and (B) neutrophils in BALF were measured by hemocytometer and flow cytometer, respectively. (C) CXCL1 accumulation in BALF was measured by ELISA kit. Data represent mean $\pm$ S.E.M., $n = 3$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, as compared with the control group. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$.

6. 統計解析 実験結果は平均値 $\pm$ 標準誤差で表し, GraphPad Prism6 (GraphPad Software Inc., San Diego) を用いて ANOVA 検定後, Dunnett の多重比較検定を実施した. また, 2 群間の検定は unpaired t -test with Welch's correction 又は Mann-Whitney test を用いて行い, $p < 0.05$ の場合に統計学的有意な差があると判断した.

結 果

1. タバコ主流煙曝露誘発気道炎症におけるコルチコステロイド感受性の変化 TS を曝露させた際のマウスの肺におけるコルチコステロイド感受性の変化を検討するため, マウスに 1–10 日間 TS 曝露させ DEX (0.6 mg/kg/d) を投与し, BALF 中の炎症性細胞数及び CXCL1 量を測定した.

マウスに TS を 1 日曝露させると, BALF 中の総細胞数及び好中球数は有意に増加し, 3–10 日間 TS 曝露によってさらに漸増した [Figs. 1(A) and (B)]. 1 日 TS 曝露後の総細胞数は DEX によって有意に減少し, 3 日間 TS 曝露後の総細胞数でも抑制傾向がみられた. また, 1 日 TS 曝露後の好中球数も DEX によって有意に抑制された. しかし, 5 及び 10 日間 TS 曝露後の総細胞数, 並びに 3–10 日間 TS 曝露後の好中球数の増加に対する DEX の抑制効果

Fig. 2. TS Exposure Reduced the Effects of Dexamethasone on Number of Inflammatory Cells and Chemokine Expression in BALF

Mice were exposed to TS for 5 d and subcutaneously treated with 0.06, 0.6, and 1.2 mg/kg of DEX once daily 30 min before the TS exposure. The numbers of (A) alveolar total cells and (B) neutrophils in BALF were measured by hemocytometer and flow cytometer, respectively. (C) CXCL1 accumulation in BALF was measured by Quantikine® ELISA kit. Data represent mean $\pm$ S.E.M., $n = 3-4$, ^{##} $p < 0.01$, as compared with the control group.

は認められなかった [Figs. 1(A) and (B)]. また, BALF 中の CXCL1 量は 1 日 TS 曝露後に著しく増加し, 3-10 日間 TS 曝露後では 1 日曝露後よりも CXCL1 量は減少したものの, 非曝露群に比べて有意に増加した. これに対して DEX は, 1 日 TS 曝露後の CXCL1 量をわずかに抑制したものの, 3-10 日間 TS 曝露後の CXCL1 量には影響しなかった [Fig. 1(C)].

そこで次に, 5 日間 TS 曝露したマウスに対して DEX を 0.06, 0.6 及び 1.2 mg/kg/d 投与して, BALF 中の総細胞数, 好中球数及び CXCL1 量を測定した. 5 日間 TS 曝露後においては, すべての投与量で総細胞数及び好中球数の増加に対する DEX の効果は認められなかった [Figs. 2(A) and (B)]. さらに, 5 日間曝露後の CXCL1 量も調べたが, すべての投与量で DEX による抑制効果は認められなかった [Fig. 2(C)].

これらの結果から, 少なくとも 5 日間以上の TS 曝露でコルチコステロイド感受性が低下することが示唆された.

2. タバコ主流煙及び poly(I:C) 曝露によって誘発したコルチコステロイド感受性の低下と TNF- α の関連 マウスに 10 日間 TS 曝露して気道炎症を誘発し, 抗 TNF- α 抗体の効果を調べた. 先述の

Fig. 3. The Combination Treatment of DEX and TNF- α Neutralization Attenuated TS Induced-increase of Inflammatory Cells in BALF

Mice were exposed to TS for 10 d and subcutaneously treated with 0.6 mg/kg of DEX once daily 30 min before the TS exposure. Mice were also intranasally treated with anti-TNF- α antibody every other day for 10 d. The numbers of (A) alveolar total cells and (B) neutrophils in BALF were measured by hemocytometer and flow cytometer, respectively. Data represent mean $\pm$ S.E.M., $n = 3-4$, ^{##} $p < 0.01$, ^{###} $p < 0.001$, as compared with the control group, ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$.

実験と同様, 10 日間 TS 曝露によって BALF 中の総細胞数及び好中球数は有意に増加した. 抗 TNF- α 抗体を単独で投与した場合, BALF 中の総細胞数及び好中球数に非投与群との差は認められなかった. しかし, 抗 TNF- α 抗体と DEX を併用投与した群では, 非投与群, 抗 TNF- α 抗体単独投与群のどちらと比較しても総細胞数が有意に減少し, 好中球数も非投与群と比較して約 52% まで減少した [Figs. 3(A) and (B)].

次に, 11 日間 TS 曝露後に poly(I:C) を 3 日間経鼻曝露させて気道炎症を誘発し, 抗 TNF- α 抗体の効果を検証した. TS 曝露後に poly(I:C) を 3 日間経鼻曝露させることで BALF 中の総細胞数及び好中球数が有意に増加した [Figs. 4(A) and (B)]. 抗 TNF- α 抗体を単独で投与した群では, 非投与群と同程度の総細胞数及び好中球数が観察された. これに対して, 抗 TNF- α 抗体と DEX を併用投与した群では総細胞数, 好中球数ともに, 非投与群, 抗 TNF- α 抗体単独投与群と比較して細胞数が有意に減少した [Figs. 4(A) and (B)]. さらに, コルチコステロイドによる遺伝子発現レベルでの炎症反応の抑制の指標として, 肺での TNF- α mRNA 発現量を測定した. TS 及び poly(I:C) 曝露によって TNF- α mRNA 発現は有意に亢進し, 抗 TNF- α 抗体は単独ではこれに影響しなかった. しかし, 抗 TNF- α 抗体と DEX を併用した群では, 非投与群と比較して TNF- α mRNA 発現量が約 49% まで抑制された (Fig. 5).

したがって, TS 及び poly(I:C) によって誘発し

Fig. 4. The Effects of Anti-TNF- α Antibody on TS and Poly (I:C) Induced-increase of Inflammatory Cells in BALF

Mice were intranasally administrated to poly (I:C) for 3 d, following to exposure of TS for 11 d. Mice were intranasally treated with anti-TNF- α antibody every other day 2 h before the TS or poly (I:C) exposure, and also treated with 0.6 mg/kg of DEX 30 min before the poly (I:C) administration. The numbers of (A) alveolar total cells and (B) neutrophils in BALF were measured by hemocytometer and flow cytometer, respectively. Data represent mean $\pm$ S.E.M., $n = 4$, $^{***}p < 0.001$, as compared with the control group, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$.

Fig. 5. The Effects of Anti-TNF- α Antibody on TS and Poly (I:C) Induced-increase of Cytokine mRNA Expression in Lung Tissue

Mice were intranasally administrated to poly (I:C) for 3 d, following to exposure of TS for 11 d. Mice were intranasally treated with anti-TNF- α antibody every other day 2 h before the TS or poly (I:C) exposure, and also treated with 0.6 mg/kg of DEX 30 min before the poly (I:C) administration. Data represent mean $\pm$ S.E.M., $n = 3-4$, $^{*}p < 0.05$, as compared with the control group.

た気道炎症モデルにおいて、TNF- α は炎症反応に対する影響は限られるもののコルチコステロイド感受性の低下には関与しており、ステロイド抗炎症薬とTNF- α の阻害を併用することで気道炎症が制御できることが明らかになった。

考 察

コルチコステロイド感受性の低下はCOPDにおいて、病態の基礎である気道炎症の制御を妨げる要因の1つである。また、*Haemophilus influenzae*や*Streptococcus pneumoniae*などへの細菌感染、あるいはrhinovirusへのウィルス感染による炎症性呼吸器疾患も、COPDや喘息の急性増悪を誘発するためにしばしば問題となる。⁵⁻⁹⁾ われわれは以前の研究で、poly (I:C)やLPSを3日間、マウスに反復経鼻曝露させることでコルチコステロイド感受性の

低下を伴う気道炎症が誘発されることを明らかにした。^{10,11)} また、他のグループは、喘息モデルマウスにおいて、respiratory syncytial virus感染によってコルチコステロイド感受性の低下が認められることを報告している。²³⁾ これらの知見は、呼吸器感染症がコルチコステロイド感受性の低下を誘発する要因の1つであることを示唆する。そのため、コルチコステロイド感受性を改善することは、COPDに限らず様々な呼吸器疾患の治療に寄与することが期待される。また、本研究では、5-10日間のTS曝露によって誘導したBALF中の好中球数増加を特徴とする炎症性細胞数やCXCL1量の増加に対してDEXが抑制効果を示さないことを明らかにした。これらのことから、気道炎症を誘発する様々な刺激や微生物への反復・持続曝露によって、コルチコステロイド感受性は短期間に低下することが示唆された。

コルチコステロイド感受性を低下させる機序の1つとして、phosphoinositide-3-kinase (PI3K)を介したHDAC2発現量の低下が明らかになっている。^{10,12,24)} そのため、TSやLPS, poly (I:C)によるコルチコステロイド感受性の低下には、PI3Kの活性化が重要な役割を担うと考えられる。しかし近年、*in vivo*, *in vitro*の様々な研究により、インターロイキン (interleukin; IL)-2, IL-4, IL-33, thymic stromal lymphopoietin, transforming growth factor- β などといった様々なサイトカインの単独又は共処理によってコルチコステロイド感受性が誘導されることが報告されている。²⁵⁻²⁷⁾ そのため、種々の病態モデルで、PI3Kシグナルを介したHDAC2発現量の低下だけではなく、同時にいくつかの機序を介してコルチコステロイド感受性の低下が誘導される可能性がある。短期間のTS曝露モデルにおけるコルチコステロイド感受性の低下と他の報告にある機序との関連については今後さらに検討していく必要がある。

TNF- α もまた、*in vivo*, *in vitro*の研究で、コルチコステロイド感受性を低下させる要因となることが報告されている。¹⁹⁻²¹⁾ 本研究で用いた病態モデルでは、抗TNF- α 抗体単独ではBALF中の炎症性細胞の増加も肺でのTNF- α mRNA発現も抑制されなかったことから、気道炎症の病態形成に対するTNF- α の影響はかならずしも大きくない可能性が

示された。抗 TNF- α 抗体及び DEX を併用すると BALF 中の炎症性細胞の増加が有意に抑制され、TNF- α mRNA 発現に抑制傾向が認められた。すなわち、部分的にはあるが、抗 TNF- α 抗体はコルチコステロイド感受性を改善することが示唆された。コルチコステロイドによる炎症反応の抑制には、GR が nuclear factor- κ B (NF- κ B) などの転写活性を抑制することで、種々の炎症メディエーターの遺伝子発現を抑制する機序が関与する。²⁾ TNF- α の mRNA 発現も NF- κ B 依存的でありコルチコステロイドによって発現抑制されることから、抗 TNF- α 抗体と DEX の併用により NF- κ B 依存的な遺伝子発現に対する GR の抑制がみられたと考えられた。²⁸⁾ したがって、本研究で用いた病態モデルにおいて、TNF- α は、TNF- α mRNA を含む炎症メディエーター遺伝子に対する GR の転写抑制機能を低下させ、コルチコステロイド感受性の低下に関与した可能性が示された。

コルチコステロイド感受性の低下には、酸化ストレス及び phosphatase and tensin homolog (PTEN) 発現の低下による PI3K シグナルの活性化、並びに TS 曝露によって誘導される NO シグナルによる HDAC2 の発現低下が関与する。^{1,29,30)} TNF- α もまた、PI3K シグナルを活性化することで、本研究で観察されたコルチコステロイド感受性の低下に一部関与したと考えられる。^{31,32)} また、IL-2、IL-4 及び IL-13 や細菌感染などの様々な要因で活性化される p38 mitogen activated protein kinase (MAPK) シグナルも、コルチコステロイド感受性の低下を誘導することが知られている。^{1,33,34)} TNF- α は p38 MAPK シグナルの活性化にも関与しており、TS によるコルチコステロイド感受性の低下には、TNF- α 依存的な p38 MAPK シグナルの活性化が一部関与する可能性も否定できない。²²⁾ コルチコステロイド感受性の低下にはその他、TNF- α /IFN- γ の共処理による interferon regulator factor 1 の活性化や、IL-1 β による p38 MAPK シグナル及び c-Jun amino-terminal kinase (JNK) シグナル依存的な GR β 発現の亢進が関与することも知られている。^{20,35)} したがって、低下したコルチコステロイド感受性を十分に改善するには複数の機構を阻害することが望ましく、TNF- α はその重要な標的の 1 つであると考えられる。今回用いた病態モデルにおける p38

MAPK 活性と TNF- α との関連については十分に検討できていないため、今後さらに検討を重ねていかなければならない。

本研究において、抗 TNF- α 抗体と DEX の併用によって炎症性細胞の増加が抑制されたことから、TNF- α は、TS 曝露気道炎症モデルや COPD の急性増悪を模倣した TS 及び poly(I:C) 反復曝露気道炎症モデルにおけるコルチコステロイド感受性の低下に、少なくとも一部関与することが示唆された。他のグループもアレルギー性気道炎症モデルにおけるコルチコステロイド感受性の低下への TNF- α の関与を報告していることを考えあわせると、TNF- α を治療のターゲットとすることは、多くの炎症性呼吸器疾患の治療に貢献する治療戦略の 1 つとなることが期待される。

謝辞 本研究の一部は、文部科学省私立大学研究ブランディング事業「スポーツ日大によるアンチ・ドーピング教育研究拠点確立とポストオリンピックへの展開」の助成を受けて行った。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Barnes P. J., Adcock I. M., *Lancet*, **373**, 1905–1917 (2009).
- 2) Barnes P. J., *Br. J. Pharmacol.*, **163**, 29–43 (2011).
- 3) Rogers D. F., *Respir. Care*, **52**, 1134–1149 (2007).
- 4) Chung K. F., *Proc. Am. Thorac. Soc.*, **2**, 347–354; discussion 371–372 (2005).
- 5) Sethi S., Wrona C., Eschberger K., Lobbins P., Cai X., Murphy T. F., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **177**, 491–497 (2008).
- 6) Bauer C. M., Zavitz C. C., Botelho F. M., Lambert K. N., Brown E. G., Mossman K. L., Taylor J. D., Stämpfli M. R., *PLoS One*, **5**, e13251 (2010).
- 7) Hudy M. H., Traves S. L., Wiehler S., Proud D., *Eur. Respir. J.*, **35**, 1256–1263 (2010).
- 8) Kulkarni R., Rampersaud R., Aguilar J. L., Randis T. M., Kreindler J. L., Ratner A. J., *Infect. Immun.*, **78**, 2146–2152 (2010).
- 9) Hewitt R., Farne H., Ritchie A., Luke E.,

- Johnston S. L., Mallia P., *Ther. Adv. Respir. Dis.*, **10**, 158–174 (2016).
- 10) Ueda K., Nishimoto Y., Kimura G., Masuko T., Barnes P. J., Ito K., Kizawa Y., *Biochem. Biophys. Rep.*, **7**, 367–373 (2016).
- 11) Kimura G., Ueda K., Eto S., Watanabe Y., Masuko T., Kusama T., Barnes P. J., Ito K., Kizawa Y., *Chest*, **144**, 99–105 (2013).
- 12) To Y., Ito K., Kizawa Y., Failla M., Ito M., Kusama T., Elliott W. M., Hogg J. C., Adcock I. M., Barnes P. J., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **182**, 897–904 (2010).
- 13) Papi A., Contoli M., Adcock I. M., Bellettato C., Padovani A., Casolari P., Stanciu L. A., Barnes P. J., Johnston S. L., Ito K., Caramori G., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **132**, 1075–1085.e6 (2013).
- 14) Cho Y. S., Kim T. B., Lee T. H., Moon K. A., Lee J., Kim Y. K., Lee K. Y., Moon H. B., *Clin. Exp. Allergy*, **35**, 1625–1631 (2005).
- 15) Barnes P. J., Adcock I. M., Ito K., *Eur. Respir. J.*, **25**, 552–563 (2005).
- 16) Barnes P. J., *Br. J. Pharmacol.*, **148**, 245–254 (2006).
- 17) Adenuga D., Yao H., March T. H., Seagrave J., Rahman I., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **40**, 464–473 (2009).
- 18) Ito K., Yamamura S., Essilfie-Quaye S., Cosio B., Ito M., Barnes P. J., Adcock I. M., *J. Exp. Med.*, **203**, 7–13 (2006).
- 19) Van Bogaert T., Vandevyver S., Dejager L., Van Hauwermeiren F., Pinheiro I., Petta I., Engblom D., Kleyman A., Schutz G., Tuckermann J., Libert C., *J. Biol. Chem.*, **286**, 26555–26567 (2011).
- 20) Tliba O., Damera G., Banerjee A., Gu S., Baidouri H., Keslacy S., Amrani Y., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **38**, 463–472 (2008).
- 21) Dejager L., Dendoncker K., Eggermont M., Souffriau J., Van Hauwermeiren F., Willart M., Van Wonterghem E., Naessens T., Ballegeer M., Vandevyver S., Hammad H., Lambrecht B., De Bosscher K., Grooten J., Libert C., *Mucosal. Immunol.*, **8**, 1212–1225 (2015).
- 22) Sabio G., Davis R. J., *Semin. Immunol.*, **26**, 237–245 (2014).
- 23) Nguyen T. H., Maltby S., Simpson J. L., Eyers F., Baines K. J., Gibson P. G., Foster P. S., Yang M., *J. Immunol.*, **196**, 3547–3558 (2016).
- 24) Marwick J. A., Caramori G., Stevenson C. S., Casolari P., Jazrawi E., Barnes P. J., Ito K., Adcock I. M., Kirkham P. A., Papi A., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **179**, 542–548 (2009).
- 25) Mercado N., Hakim A., Kobayashi Y., Meah S., Usmani O. S., Chung K. F., Barnes P. J., Ito K., *PLoS One*, **7**, e41582 (2012).
- 26) Salem S., Harris T., Mok J. S., Li M. Y., Keenan C. R., Schuliga M. J., Stewart A. G., *Br. J. Pharmacol.*, **166**, 2036–2048 (2012).
- 27) Liu S., Verma M., Michalec L., Liu W., Sripatha A., Rollins D., Good J., Ito Y., Chu H., Gorska M. M., Martin R. J., Alam R., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **141**, 257–268.e6 (2018).
- 28) Steer J. H., Kroeger K. M., Abraham L. J., Joyce D. A., *J. Biol. Chem.*, **275**, 18432–18440 (2000).
- 29) Kim R. Y., Horvat J. C., Pinkerton J. W., Starkey M. R., Essilfie A. T., Mayall J. R., Nair P. M., Hansbro N. G., Jones B., Haw T. J., Sunkara K. P., Nguyen T. H., Jarnicki A. G., Keely S., Mattes J., Adcock I. M., Foster P. S., Hansbro P. M., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **139**, 519–532 (2017).
- 30) Yanagisawa S., Baker J. R., Vuppusetty C., Fenwick P., Donnelly L. E., Ito K., Barnes P. J., *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **313**, L230–L239 (2017).
- 31) Zhang R., Xu Y., Ekman N., Wu Z., Wu J., Alitalo K., Min W., *J. Biol. Chem.*, **278**, 51267–51276 (2003).
- 32) Jude J. A., Tirumurugan K. G., Kang B. N., Panettieri R. A., Walseth T. F., Kannan M. S., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **47**, 427–435 (2012).
- 33) Charron C. E., Russell P., Ito K., Lea S., Kizawa Y., Brindley C., Singh D., *Eur. Respir. J.*, **50**, 1700188 (2017).
- 34) Khalaf R. M., Lea S. R., Metcalfe H. J., Singh D., *Respir. Res.*, **18**, 61 (2017).
- 35) Wang Z., Li P., Zhang Q., Lv H., Liu J., Si J., *J. Inflamm. (Lond.)*, **12**, 3 (2015).